

## Sobre uma nova forma de Piedra

PKLO

**Dr. Paulo Horta.**

(Com as estampas 5 e 6)

## Sur une nouvelle forme de Piedra

PAR LE

**Dr. Paulo Horta.**

(Avec planches 5 et 6).

Entre as afeções nodozas dos cabelos humanos, a *Piedra*, se destaca pela orijem criptogamica desses nodulos, em contraposição ás outras afeções nodozas, como o *monilethrix*, a *trichorhexis* e o *leptoethrix* que, ou são de orijem não parazitaria ou de orijem bacteriana.

O nome de *Piedra* foi-lhe dado na Colombia, onde existe com certa frequencia no Estado de *Cauco* e em *Medelin*, capital do Estado de *Antioquia*. Colombianos são tambem os primeiros estudos a seu respeito, feitos em 1876 pelo Professor NICOLAU OZORIO e POZADA ARANGO. Estes autores, feito o estudo clinico da afeção, enviaram a especialistas europeos importante material, com o qual DESENNE, JUHEL-RENOY, MALCOM MORRIS, LYON e BEHREND puderam realizar bons trabalhos sobre a natureza criptogamica dos nodulos vistos nos cabelos.

Pensou-se durante muito tempo ser a *Piedra* peculiar á Colombia, não obstante haver sido, anteriormente aos trabalhos de

Par son origine cryptogamique la *piedra* se distingue des autres affections nodulaires des cheveux, telles que le *monilethrix*, la *trichorhexis* et la *leptoethrix*, qui sont de nature non parasitaire ou dues à des bactéries.

Le nom de *piedra* lui fut donné en Colombia, où elle s'observe assez fréquemment dans la province de CAUCO et à MEDELIN, capitale de la provence de ANTIOQUIA. C'est aussi en Colombie que les premières études sur cette affection ont été faites en 1876 par le professeur NICOLAU OZORIO et POZADA ARANGO. Après avoir étudié la partie clinique de la maladie, ces auteurs envoyèrent des matériaux importants à des spécialistes européens connus, tels que DESENNE, JUHEL-RENOY, MARCOLM MORRIS, LYON et BEHREND qui firent de bonnes études sur la nature cryptogamique des nodules, trouvés sur les cheveux.

On a pensé pendant longtemps que la *piedra* était particulière à la Colombie, quoique BEIGEL eût décrit, avant les

OZORIO, descrita por BEIGEL « a molestia dos chinós », cuja natureza criptogamica bastante contestada então, foi brilhantemente verificada em 1901 por VUILLEMIN. Outras formas europeas foram assinaladas por BEHREND e por UNNA e a literatura medica sobre a *Piedra* é bastante consideravel tendo toda razão KAPOSI em notar que a importancia practica da afeção não está em proporção com a serie consideravel de trabalhos importantes cujo interesse é quazi todo científico e relativo á historia geral dos episitos do sistema pilar.

Denominaram « *piedra nostras* » aos cacos ocorridos na Europa e « *piedra colombica* » aos observados na Colombia. A falta de diferenciação carateristica nas afeções observadas nos dois continentes fez ver a inanidade dessa diferenciação e o proprio nome de Piedra tem sido ulteriormente combatido, sendo proposta por JUHEL-RENOY a denominação de « *trichomycose nodular* » e por VUILLEMIN a de *trichosporia*, orijinaria do genero *Trichosporum*, creado por BEHREND em 1890.

Contra ambas as denominações têm sido apontados inconvenientes, mas não podemos deixar de concordar com UNNA no protesto contra a tentativa de substituição de um nome tão apropriado como « *Piedra* ». Assim se exprime o eminent professor de Hamburgo: « Eu tenho a convicção que nós, dermatolojistas, devemos ficar contentes quando um nome tão bonito, curto, sonoro, nada afirmando e a ninguem prejudicando, é apresentado e não devemos perder de vista este nome. Um nome popular e tão significativo certamente não poderia mais inventar um dermatolojista habil que tenha sempre a intenção de colocar um sentido especial na denominação ».

De fato, o nome de *Piedra* provem da dureza dos nodulos existentes nos cabelos, que, pelo tato, produzem a sensação de pequenas pedras situadas no eixo dos mesmos; no ato de pentear sente-se perfeitamente essa impressão, sendo difícil desembaraçar os cabelos piedricos.

travaux de OSORIO, la *maladie des chignons* dont la nature microbienne fut alors assez contestée, mais brillamment établie en 1901 par VUILLEMIN. D'autres formes européennes furent signalées par BEHREND et UNNA et la littérature médicale sur la *piedra* est assez vaste, de sorte que KAPOSI put remarquer avec raison que l'importance pratique de l'affection ne correspond aucunement à la série considérable de travaux importants dont l'intérêt est presque absolument scientifique et se rattache à l'histoire générale des epiphytes du système pilaire.

On a appelé *piedra nostras* les cas qui se donnèrent en Europe et *piedra columbiana* ceux qu'on observe en Colombie. Le défaut de différences caractéristiques entre les cas observés dans les deux continents a montré le peu de valeur de cette distinction et en conséquence même le nom de *piedra* a été critiqué, celui de « *trichomycosis nodularis* » ayant été proposé par JUHEL-RENOY et par VUILLEMIN celui de *trichosporie*, dérivé du genre *trichosporum*, créé par BEHREND en 1890.

On a trouvé des objections aux deux noms, mais je suis d'accord avec UNNA, pour protester contre les essais de substitution d'un nom tellement approprié, comme l'est celui de *piedra*. Voici comment s'exprime l'éminent professeur de Hambourg: « Je suis convaincu que nous dermatologistes nous devrions être contents quant il s'offre un nom si joli, court et sonore, qui n'affirme rien et ne fait de tort à personne, et que nous ne devons pas le perdre de vue. Un nom tellement populaire et significatif ne saurait être inventé, même par un dermatologue habile qui aurait toujours la préoccupation d'attacher une signification particulière à sa désignation ».

En effet le nom de *piedra* se lie à la dureté des nodules qui donnent au toucher l'impression de petites pierres, situées dans l'axe des cheveux; en se peignant on obtient distinctement cette impression et il est difficile de débrouiller les cheveux.

No Brazil a literatura medica sobre a Piedra, depois que o professor PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES comprovou sua existencia entre nós, já é digna de figurar ao lado da literatura europea.

São bem conhecidos 14 casos de Piedra, não incluindo vinte e poucos casos ocorridos na Bahia, citados por EDUARDO RABELLO e sobre os quais não encontrámos outra referencia.

O professor PEDRO SEVERIANO publicou em 1901 seu primeiro trabalho, intitulado « Um caso autochtone de Piedra » e além de duas comunicações á Academia de Ciencias de Paris, divulgou em 1906 novo caso de Piedra, que lhe fora enviado, para estudo, pelo Dr. EMILIO GOMES.

Logo depois de conhecido o primeiro caso do Professor SEVERIANO, VICTOR GODINHO, de S. Paulo, relata a observação de uma doente, por elle vista em Junho de 1896 e cujo exame microscopico fora feito por FRANCISCO FAJARDO ; cronologicamente, foi este o primeiro caso observado no Brazil.

No 6.<sup>o</sup> Congresso Brazileiro de Medicina e Cirurgia, reunido em S. Paulo, em 1907, GONÇALO MONIZ e PRADO VALLADARES comunicam seis casos observados na Bahia e no 4.<sup>o</sup> Congresso Medico Latino-American, do Rio de Janeiro, RABELLO relata dois casos encontrados no Rio Em 1909 e 1910, encontrámos dois casos de Piedra, ambos do Rio de Janeiro, em estudantes, devendo á gentileza dos Snrs. VIEIRA DE BARROS e EUGENIO LATOUR a ocazião de possuir tão abundante material de estudo como o que obtivemos desses dois portadores de Piedra. Rezolvemos então fazer um estudo mais particular da questão e graças ao Dr. OSWALDO CRUZ, nosso Diretor, obtivemos cabelos piedricos enviados da Bahia pelo Professor GONÇALO MONIZ e todo o magnifico material, composto de cabelos e culturas do Dr. EDUARDO RABELLO. Os cabelos enviados pelo Professor MONIZ eram provenientes de dois

Depuis que le professeur PEDRO SEVERIANO DE MAGALHÃES prouva que la *piedra* existe au Brésil, la littératur brésilienne sur cette affection s'est accrue et mérite d'être citée à côté de celle de l'Europe.

Il y a quatorze cas bien connus, sans conter une vingtaine d'autres observés à Bahia et cités par EDUARDO RABELLO, mais sur lesquels je ne puis trouver des renseignements.

Le professeur MAGALHÃES publia son premier travail en 1901, sous le titre : « Un cas autochtone de *piedra* » et, en sus de deux communications à l'Académie des Sciences de Paris, fit part en 1906 d'un nouveau cas de piedra, envoyé par le Dr. EMILIO GOMES pour être étudié par lui.

Peu de temps après la publication du premier cas du professeur MAGALHÃES, VICTOR GODINHO de São Paulo donna l'observation d'une malade qu'il avait vu en 1896, l'étude microscopique ayant été faite par FRANCISCO FAJARDO ; chronologiquement c'était le premier cas observé au Brésil.

Au sixième congrès de Médecine et Chirurgie, réuni à São Paulo en 1907, GONÇALO MONIZ et PRADO VALLADARES communiquèrent un cas observé à Bahia et au quatrième Congrès de l'Amérique Latine à Rio de Janeiro RABELLO se refère à deux cas observés dans cette ville. En 1909 et 1910 j'ai observé deux cas de piedra sur des étudiants de Rio de Janeiro et je dois à l'obligeance de MM. VIEIRA DE BARROS et EUGENIO LATOUR, de disposer de matériaux d'étude aussi abondants que ceux que j'obtins de ces deux porteurs de piedra. Je me décidai alors de faire une étude plus exacte de la question et par les soins de notre directeur, Dr. OSWALDO CRUZ, je reçus les cheveux de piedra du professeur MONIZ et toute la collection splendide de cheveux et cultures du docteur EDUARDO RABELLO. Les cheveux envoyés par le prof. MONIZ provenaient de deux cas, dont l'un était posté-

cazos seus, sendo um posterior aos seis comunicados ao Congresso de S. Paulo.

O Dr. RABELLO nos confiou cabelos de seus dois doentes e culturas por elle feitas com os nodulos piedricos, sendo uma semelhante á descrita por JUHEL-RENOY e outra «sem a forma vermicular de JUHEL RENOV e apresentando macroscopicamente a forma de um *trichophyton* de cultura negra, mercê de uma substancia glutinoza escura que colora a colonia», como a respeito se manifestou nas concluzões do seu relatorio sobre as dermatomicoses americanas apresentado ao 4.<sup>º</sup> Congresso Medico Latino-American. Neste relatorio julgava RABELLO interessante verificar qual a relação que guarda esse germe com a produção do nodule piedrico, tambem pigmentado.

Dos 14 cazos brasileiros de Piedra, aqui registrados, sómente um dos cazos de RABELLO tinha nodulos claros e moveis nos cabelos, não apresentando nem a côr nem a fixação que todos os outros mostravam ; de fato, em 13 cazos os nodulos piedricos, viziveis a olho nú, duros, rezistentes, tinham uma côr castanho-escura, quasi negra.

Não foi vista ainda no Brazil a localização da Piedra, como é comum na Europa, nos pêlos do bigode e da barba, não obstante apenas 3 cazos terem sido de pessoas do sexo feminino, sendo, portanto, a grande maioria dos cazos em individuos do sexo masculino, todos moços, predominando a classe dos estudantes que concordam com seis cazos para esta estatistica.

Na Colombia se observa o inverso daqui, pois lá a maioria dos afetados de Piedra são mulheres jovens.

Passamos agora a referir os estudos a que procedemos com o material de nossos dois doentes e os cabelos e culturas que nos foram enviados.

Em ambos os cazos que observámos tratava-se de moços, estudantes, em cujos antecedentes não havia menção de cazo algum identico, nem houve propagação da afeção entre as pessoas com que conviviam.

Os cuidados higienicos com o couro cabeludo eram escrupulozamente observados e á não ser o uzo, mais ou menos cons-

rieur aux six cas communiqués au congrès de São Paulo.

Le Dr. RABELLO me confia les cheveux de deux malades et les cultures, obtenues par un des nodules de piedra, dont l'une ressemblait à la description de JUHEL-RENOY et une autre, sans la forme vermiculaire de la première et montrant macroscopiquement la forme d'un trichophyton de couleur noire. Cette particularité était due à une substance gluante qui colore la colonie, comme il s'exprima dans son relatoire sur les dermatomycoses américaines, présenté au Quatrième Congrès de l'Amérique latine. Il trouvait intéressant de vérifier qu'elle était la relation que ce germe pourrait avoir avec la production du nodule piedrique, pigmenté de même.

Des quatorze cas brésiliens cités un seul de RABELLO avait des nodules clairs et mobiles, n'ayant ni la couleur, ni la fixation propres aux autres ; en effet dans treize de ces cas les nodules piedriques, visibles à l'oeil nu, étaient durs, résistants et d'une couleur brun foncé, presque noir. On n'a pas encore vu au Brésil la localisation sur les poils de la barbe et de la moustache ; pourtant, entre les individus affectés, il n'y avait que trois du sexe féminin et la grande majorité étaient des hommes, tous assez jeunes et appartenant en grande partie à la classe des étudiants qui contribuait six cas à cette statistique. En Colombie par contre la plupart des observations furent faites sur de jeunes femmes.

Passons maintenant à exposer les études faites sur nos deux malades, ainsi que sur les cheveux et les cultures qui nous furent envoyés.

Nos deux observations personnelles furent faites sur des étudiants dont les antécédents n'accusaient ni contact avec des cas semblables, ni propagation aux personnes, avec lesquelles ils habitaient.

Les soins hygiéniques du cuir chevelu étaient scrupuleusement observés et, hormis les pomades employés plus ou moins régulièrement, il n'y a pas de substances qu'on aurait pu accuser d'avoir causé ou pour le

tante, de *brilhantinas*, nenhuma outra substancia poderia ser incriminada como, senão cauzadora, ao menos coadjuvante no dezenvolvimento da trichonodose.

Do primeiro cazo tivemos copioza porção de cabelos e do segundo conservamos quazi toda a cabeleira do portador da piedra, por ser tão intensa a afeção que foi o corte quazi completo dos cabelos o meio mais pratico de obter a cura rapida; neste individuo, á distancia de alguns metros se percebia placas escuras nas rejiões laterais da cabeça, contrastando com a côr mais clara dos cabelos em outras zonas; em sua caza diziam que elle tinha « pixe » no cabelo e de fato, ao se aproximar do paciente tinha-se a impressão que foram aplicadas sobre certas partes da cabeça camadas extensas de alguma substancia preta, brilhante e viscoza.

#### *Caracteres dos cabelos doentes:*

Observando-se com alguma atenção via-se que os cabelos estavam cheios de multidão de pequenos nodulos, de tamanho variavel, rezistentes e produzindo atrito apreciavel pela palpação.

Este mesmo ruido era percebido fazendo-se passar um pente pela cabeça. A rezistencia do cabelo á traçao era perfeitamente normal e os nodulos duros e fortemente aderentes ao cabelo, tinham uma côr escura acentuada.

Retirando-se um cabelo afetado e examinando-o com uma lente fraca notava-se que grande numero de nodulos pardo-escuros estava assentado sobre o pelo, ora reunidos, 2, 3 e mais em serie, ora afastados, deixando uma zona intercalar de pelo normal, ás vezes colocados lateralmente como simples proeminencias, quazi sempre envolvendo o pelo como um pequeno estojo engreido e de bordos irregulares; com aumento maior distinguia-se uma grande quantidade de pequenos nodulos e aderencias escuras, completamente inviziveis a olho nú. Algumas vezes era possivel verificar a constituição criptogamica dessas aderencias, pois era ella constituída de

moins favorisé le développement de la trichonodose.

Du premier cas j'ai reçu un grand nombre de cheveux et du second j'ai conservé presque toute la chevelure, l'affection ayant été tellement intense que le moyen le plus pratique, pour obtenir une guérison rapide, paraissait la coupe à-peu-près complète des cheveux. Chez cet individu on voyait, à une distance de quelques mètres, des plaques sombres sur les régions latérales de la tête qui contrastaient avec la couleur plus claire d'autres endroits; on disait chez lui, qu'il avait de la poix sur les cheveux, et en effet, en s'approchant du malade, on avait l'impression qu'on lui avait appliqué sur certaines parties de la tête des couches étendues d'une substance noire, brillante et visqueuse.

#### *Caractères des cheveux malades.*

En observant quelque peu attentivement les cheveux, on voyait qu'ils étaient couverts de petits nodules de grosseur variable, résistants et donnant au toucher une sensation nette de friction. On entendait un bruit correspondant en passant un peigne sur la tête. La résistance des cheveux à la traction était tout-à-fait normale et les nodules durs et fortement adhérents avaient une couleur foncée bien accusée.

Enlevant un des cheveux et l'examinant avec un grossissement faible, on y voyait un grand nombre de nodules d'un brun foncé, soit réunis par groupes de deux, trois et même davantage, soit éloignés et séparés par une partie normale, parfois posés latéralement et faisant saillie, mais généralement enfermant le cheveu comme un étui noirâtre à bords irréguliers; avec un grossissement plus fort on distinguait un grand nombre de petits nodules et adhérences foncés qui étaient complètement invisibles à oeil nu. Quelquefois on pouvait reconnaître la nature cryptogamique de ses corps adhérents, puisqu'ils consistaient d'une simple couche

simples camada de um mozaico, cuja estrutura estudaremos adiante; na figura 6 da Est. 5 reprezentamos uma saliencia piedrica exatamente nestas condições. Nos nodulos maiores e por isso mesmo mais compactos era impossivel distinguir o cogumelo que os formava; apenas a dissociação pela potassa ou pela soda a 40 % permitia decifrar-lhes a contextura.

#### *Exame do parazito nos cabelos:*

Em todos os nodulos era facil estabelecer na parte periferica, a existencia de zonas mais claras em que se distingue perfeitamente hifas segmentadas com a mesma disposição dos micelios esporulados dos tricófitos megasporios. O mozaico descrito neste cogumelo, no pêlo, por todos os autores, tem a mesma origem que o mozaico dos tricofitos e do microsporio *Audouini*: é o resultado da pressão reciproca das hifas micelianas, cujo processo de segmentação é aqui muito intenso, sendo os septos muito aproximados. É suficiente tomar para exame uma zona em que existe uma pequena saliencia, inicio do futuro nódulo, para que se perceba exatamente essa estrutura, com uma lente de aumento forte, sem auxilio de clarificante ou liquido dissolvidor algum. Nas zonas mais exteriores é apenas visto o mozaico compacto formado por corpusculos de tamanho nem sempre igual, uns poliedricos e de bordos regulares, outros redondos, outros mais alongados, ovais; à proporção que se caminha para a parte interna ou para a zona na qual se expande o parazito, os articulos micelianos são bem evidenciados e os corpusculos vão-se alongando até se encontrar zonas em que a dicotomização vem tirar toda duvida acerca da natureza desse micelio. A terminação das hifas faz-se quasi sempre por meio de elementos menores, um pouco ovalares. Nas zonas mais compactas do parazito a côr é mais acentuada. e, em geral, é amarela-suja-escura, tornando-se mais clara nas zonas perifericas, de invasão. Observando-se com grande aumento vê-se que a coloração do parazito se aproxima mais de um amarelo esverdeado sujo,

en mosaïque, dont la formation sera étudiée plus bas; la fig. 6, planche 5 représente une saillie de *piedra* qui se trouve exactement dans cet état. Dans les nodules plus grands et par suite plus compacts on ne pouvait distinguer le champignon qui les formait; ce n'est qu'en les traitant avec des solution de potasse ou de soude qu'on réussissait à en déchiffrer la structure.

#### *Examination des parasites sur les cheveux.*

Dans tous les nodules on constate facilement dans les parties périphériques des zones plus claires, où l'on distingue parfaitement des hyphes segmentées avec la même disposition des mycèles sporulés, comme chez les trichophytons megaspores. Le mosaïque, décrit par tous les auteurs dans les cheveux infestés par ce champignon, a la même origine que le mosaïque des trichophytons et du *microsporon Audouini*; il résulte de la pression réciproque des hyphes mycéliennes, dont le procès de segmentation est ici très actif, avec les cloisons très rapprochées. Il suffit de choisir pour l'examen une zone avec une petite saillie, indice d'un nodule en formation, pour reconnaître cette structure avec un grossissement assez fort, sans le secours d'un réactif, destiné à dissocier les éléments ou à les rendre plus visibles. Dans les zones antérieures on ne voit guère que le mosaïque compact, formé par des corpuscules de grandeur variable, les uns régulièrement polyédriques, les autres plus allongés, de forme ovale; à mesure qu'on arrive à la partie interne ou à la zone d'expansion du parasite, les articles mycéliens deviennent bien distincts et les corpuscules s'allongent jusqu'à ce que l'on trouve des zones, où la dichotomie enlève tout doute sur la nature de ce mycèle. Les hyphes se terminent presque toujours par des éléments plus petits et un peu ovales. Aux zones plus compactes du champignon la coloration est plus intense; en général elle est d'un jaune sâle et sombre, devenant plus claire aux zones d'invasion périphériques. Employant un grossissement fort,

de matizes diferentes, conforme a zona. Na parte periferica dos articulos micelia nos e dos mozaicos esporiformes, a cor é forte, tendo-se a impressão de existencia de um envolucro rezistente bastante corado. Entre as hifas e os articulos que formam o mozaico existe substancia glutinoza, amarelo-esverdeada, que é perfeitamente apreciavel nos preparados dos grandes nodulos apoz dissociação. Não encontrámos absolutamente os bastonetes, descritos por DESENNE e que, no dizer de JUHEL-RENOY, quando em colonias compactas, formam a substancia amarelo-verdoenga a que é devida a rezistencia e dureza das nodozidades piedricas e comparavel á substancia mucilajinoza do *favus*.

Dissociando-se o pelo pela potassa com a tecnica usual, apenas notamos massas mais ou menos volumozas de granulações escuras, extremamente pequenas, refringentes e que atribuimos á corpusculos dissolvidos pela potassa e cuja natureza ignoramos; não se trata de esporios nem tampouco de germens. Formações importantissimas e que não vimos descritas por autor algum são grandes cistos ovalares, que, em grandes quantidades estão mergulhados no interior de todos os nodulos que tivemos ocazião de examinar e que vimos sempre no cabelo dos seis cazos de que temos material, tendo exatamente a mesma morfolojia, quer nos cabelos dos cazos do Rio de Janeiro, quer nos cabelos provenientes da Bahia. A impressão grosseira que se tem quando se vê pela primeira vez estes cistos é que se trate de formas de reprodução de algum coccidio em faze de sporogonia. Esses cistos apresentam uma seriação tão carateristica que é possivel acompanhar sua evolução desde a faze inicial até á de sua rutura, libertando e deixando cair no interior do micelio elementos longos, fuziformes, um pouco recurvados e tendo as extremidades munidas de um cilio, que têm quazi sempre um terço do comprimento delles. A quantidade não só desses cistos como dos elementos fuziformes é tão grande e seu volume se destaca

on voit la coloration du parasite s'approcher plutôt d'un jaune verdâtre sâle, différent en nuance selon la zone. À la partie périphérique des articles mycéliens et des mosaïques à forme de spores, la couleur est intense, donnant l'impression de la présence d'une enveloppe résistante, assez fortement colorée. Entre les hyphes et les articles qui forment le mosaïque il y a une substance gluante, jaune-verdâtre, qu'on reconnaît parfaitement après dissociation dans les préparations des nodules grands. Je n'ai point trouvé les bâtonnets décrits par DESENNE qui, selon JUHEL-RENOY, réunis en colonies compactes, formeraient la substance jaune-verdâtre, à laquelle les nodules de *piedra* doivent leur dureté et résistance et que l'on pourrait comparer à la substance mucilagineuse du *favus*.

En dissociant le cheveu en solution de potasse et employant la technique habituelle, je n'ai trouvé que des masses plus ou moins volumineuses de granulations sombres, extrêmement petites et refringentes, que j'attribue à des substances de nature inconnue, mises en évidence par la potasse; ce ne sont point des spores, ni des germes. Des formes très importantes dont je ne trouve, aucune description, sont de grands kystes ovales qui se trouvent logés, en grand nombre, à l'intérieur de tous les nodules que j'ai examiné et que j'ai vu toujours sur les cheveux des six cas dont j'ai des spécimens, avec une morphologie égale pour les cas de Rio de Janeiro, comme pour ceux de Bahia. L'impression grossière, obtenue à la première vue de ces kystes, est que ce soient des coccidies en forme de sporogonie. Ils montrent des étapes tellement caractéristiques que l'on peut accompagner leur développement depuis le commencement, jusqu'à leur rupture qui laisse échapper dans le mycèle des corpuscules allongés, fusiformes, un peu courbés et munis aux deux extrémités d'un cil dont la longueur est généralement d'un tiers de celle du corpuscule. Le nombre de ces kystes et des corps fusiformes est généralement tellement grand et leur volume

tanto no meio dos elementos do cogumelo que é difícil admitir sua existencia nos nodulos piedricos colombianos e nos estudos na Europa por pesquisadores tão competentes, a quem não escapariam essas formações que vêm, talvez, projetar uma luz nova sobre a classificação do parazito da piedra.

Não ha a menor duvida que não se trata aqui de algum protozoario, mas sim de formações dependentes de algum bolor porque longe de desaparecerem com a ação da potassa, ao contrario melhor se destacam.

A faze inicial destes cistos é constituída por grande celula em que é bem visivel uma membrana envoltoria, circundando uma zona clara, estreita, que limita a massa protoplasmica interna em que quazi sempre se vê já um inicio de segmentação, (Est. 5, Fig. 8). A membrana e a zona vizinha clara permanecem durante todo o processo nas mesmas condições, enquanto transformações importantes tem logar na massa plasmica central. Ora o protoplasma se condensa em certos pontos, como na (Est. 5, Fig. 9) ficando uma esfera da protoplasma mais claro no centro da zona central ; ora, como em outra faze subsequente, (Est. 5, Fig. 10) encontramos a massa plasmica já subdividida em pequenos elementos constituidos por membrana, zona clara periferica e zona protoplasmica interna. Esses elementos dão a impressão de serem salientes tomando então o cisto o aspecto de morula. Daí em diante as fases se sucedem tipicas como em um ocisto de coccidio que evolve para a sporogonia. O numero de elementos alongados contidos no seu interior, é normalmente de 8, porém temos visto, não raro, maior numero. A capsula externa, rompendo-se, põe em liberdade esses elementos, que se assemelham de modo notavel com os sporozoitos de coccidios. No interior desses corpos fusiformes não ha septos.

As figuras anexas a este trabalho (Est. 5, Fig. 8 a 19) esclarecem bem a questão e é suficiente dissociar com potassa,

contraste tant avec des autres formes du champignon qu'il est difficile d'admettre leur présence dans les nodules de *piedra* de la Colombie et de ceux étudiés en Europe par des experts tellement compétents que ces formations, qui peut être jettent une nouvelle lumière sur la classification du parasite de la *piedra*, n'auraient guère pu leur échapper.

Tout de même, il est évident qu'il ne peut se traiter ici d'un protozoaire et que ce sont des formes appartenant à quelque hyphomycète qui, loin de disparaître sous l'action de la potasse, deviennent au contraire plus distinctes.

La phase initiale de ces kystes est représentée par une grande cellule, à membrane bien visible entravant une zone claire et étroite autour d'une masse protoplasmique interne qui généralement montre déjà un commencement de segmentation (Pl. 5, fig. 8). La membrane et la zone claire voisine se conservent pendant tout le procès en même état, tandis que des transformations importantes se passent dans la masse plasmique centrale. Parfois le protoplasme se condense en certains points (Pl. 5, fig. 9) et il reste une boule de protoplasme plus clair, au milieu de la masse centrale ; d'autres fois, dans une phase postérieure (planche 5, fig. 10), nous trouvons la masse plasmique déjà divisée en petits éléments, formés par une membrane, une zone extérieure claire et une masse interne de protoplasme. Ces éléments apparaissent comme en relief et le kyste présente ainsi l'apparence d'une *morula*. Ensuite se succèdent les phases typiques, comme dans un okyste de coccidie qui évolue à la sporogonie. Le nombre des corps allongés, qu'ils renferment, est généralement de 8, mais j'ai vu assez souvent un plus grand nombre. La capsule externe se rompt et laisse échapper les éléments qui montrent une ressemblance curieuse avec les sporozoites des coccidiés. Il n'y a pas de cloisons à l'intérieur de ces corps fusiformes.

Les figures accompagnant cette étude (Planche 5, fig. 8—14) représentent bien

entre lamina e laminula, um nódulo dos cabelos que possuímos, para que esses aspectos se evidenciem.

Seria possível considerar esses cistos como ascos, contendo típicos ascospórios em seu interior; quanto à existência dos cílios talvez não devam ser encarados como cílios propriamente ditos, pois como adiante mostraremos, conseguimos surpreender sua germinação: simples rudimentos de micelio talvez seja a sua verdadeira significação. Aguardamos, entretanto, a opinião dos competentes, cuja atenção se prenderá certamente à existência destes corpusculos ainda não descritos na Piedra e que esperamos, servirão para definitiva classificação de seu cogumelo, em que são tão notáveis as divergências entre eminentes micólogos que se têm ocupado com este assunto. Na literatura micológico não encontrámos referências às formações semelhantes. O mecanismo de sua formação, os filamentos existentes nas extremidades, a falta de septos no interior desses corpos fusiformes, tornam impossível qualquer aproximação com os conídios fusiformes pluriseptados que se observam em quase todos os microsporios e tricofitos.

Além desses cistos encontramos artículos micelianos, no parásito da piedra, que merecem descrição mais minuciosa e que consistem em segmentos de maior diâmetro, arredondados, ora na continuidade da hifa, ora um pouco lateralmente, providos de membrana mais espessa e de massa de protoplasma mais condensada e intensamente colorada que os outros artículos. A semelhança nos parece exata com os clamidospórios, que se observam em certos tricofitos, especialmente com os clamidospórios dos tricofitos faviformes.

#### Cultura do parazito.

Semeámos sempre os nódulos piedrinos no meio de prova de SABOURAUD, com maltose, procurando colocar grande número de nódulos no meio de cultura afim de obtermos o maior número possível de colônias idênticas. Cortavamos os cabelos em peque-

ce procès et il suffit de dissocier un nodule quelconque des cheveux de ces cas dans la solution de potasse, pour observer toutes ces phases dans une préparation microscopique.

On pourrait considérer ces kystes comme asques, contenant des ascospores typiques; quant aux cils, peut-être ils ne doivent pas être considérés comme cils proprement dits, parce que, comme j'exposerai plus tard, j'ai réussi à observer leur germination; peut-être s'agit-il de simples rudiments de mycèle. J'attends tout-de-même l'opinion des experts qui certainement tourneront leur attention sur ces corpuscules pas encore décrits et qui pourraient servir à la classification définitive du champignon de la *piedra*, sur lequel les opinions des auteurs, qui ont étudié la question, sont tellement en désaccord. Dans la littérature mycologique je n'ai pas trouvé mention de formes semblables. Le procès de leur formation et les filaments qui s'observent à leurs extrémités, le manque de cloisons dans ces corps fusiformes ne permettent pas de les rapprocher aux conidies pluri-septées, que l'on observe chez presque tous les microscopores et trichophytons. À côté de ces kystes, j'ai trouvé chez le champignon de la *piedra* des articles mycéliens qui méritent une description plus minucieuse; ils consistent en segments arrondis, de diamètre plus grand, placés, soit dans la continuité des hyphes, soit un peu latéralement et ont la membrane plus épaisse et une masse de protoplasme, plus condensée et de couleur plus intense que dans les autres articles. Je trouve qu'ils rappellent exactement les chlamydospores de certains trichophytons et spécialement des faviformes.

#### Culture du parasite.

J'ai toujours semé les nódulos de *piedra* sur le milieu d'épreuve de SABOURAUD (à maltose), cherchant de placer un grand nombre de nódulos, afim de recevoir sur le même milieux autant de colônias semelhantes que possível. Avec des ciseaux

nos fragmentos quasi apenas constituidos pelos nodulos, com uma tezourinha flam-bada, estando o cabelo sobre uma lamina esterilizada e, com alça de paltina, tambem esterilizada, levavamos essas particulas para o meio da cultura, deixando o espaço de uns 3 centimetros entre cada sementeira.

Grande foi nossa surpreza ao obser-varmos que as culturas só muito raramente mostravam colonias semelhantes ás de JUHEL-RENOY, classicamente descritas como as do parazito da piedra, havendo cazos como o nosso segundo, e o ultimo do Professor GONÇALO MONIZ de que abso-lutamente não obtivemos cultura alguma vermiforme; no entanto o parazito situado no nodule se dezenvolia e daí resultava uma colonia dura rezistente á agulha de plati-na, cuja côr variava conforme a idade do dezenvolvimento. O aspetto era de *trico-phyton acuminatum* escuro. Essas colonias eram perfeitamente iguais ás que RABELLO vira se dezenvolver em suas culturas e recentemente LINDENBERG nos afirmou ter obtido em S. Paulo quando semeara cab-elos enviados da Bahia por GONÇALO MONIZ. RABELLO afirma em seu relatorio que as colonias negras eram em numero tal que em um de seus cazos a colonia semelhante á vermiforme de RENOY era em numero de 1 ou 2, para 12 e mais das outras, fato confirmado verbalmente por LINDENBERG em relação a suas culturas.

Varias vezes repetimos as experiencias de culturas, sempre nos utilizando do meio de prova de SABOURAUD, preparado com a tecnica uzada por este eminent micologo, servindo-nos constantemente de maltoze CHANUT; com o meio de SABOURAUD feito com glicoze os resultados obtidos foram identicos aos do meio maltozado. Entre-tanto convem notar que a maltoze favorece o dezenvolvimento da cultura, aparecendo as colonias mais depressa e ciecendo mais rapidamente.

Nessas repetidas experiencias o rezul-tado foi uniformemente igual; cabelos

flambés et sur une lame stérile je coupai les cheveux en petits fragments, formés presque exclusivement par des nodules, et les portai avec une ansi de platine stéri-lisée sur les milieu de culture, laissant un espace de 3 centimètres entre les points d'ensemencement.

Je fus très étonné en observant que les cultures ne montraient que très rare-ment des colonies, semblables à celles de JUHEL-RENOY, décrites comme classiques pour le champignon de la piedra et qu'il y avait même des cas, comme mon second et le dernier du professeur GONÇALO Mo-NIZ, qui ne nous donnèrent absolument pas de cultures vermiformes, quoique le para-site dans le nodule se développât en pro-duisant une colonie, dure et résistante à l'aiguille de platine et variant en couleur selon son âge. L'aspect était celui d'un *trichophytum acuminatum*, de couleur fon-cée, et ces colonies étaient parfaitement égales à celles que RABELLO avait vu se développer dans ces cultures et que LIN-DENBERG avait obtenu à S. Paulo, en en-semençant des cheveux envoyés de Bahia par GONÇALO MUNIZ. RABELLO affirme dans son relatoire que le nombre des colo-nies noires était tel, que dans un de ces cas la colonie semblable à la vermiforme de RENOY se trouvait en proportion de 1 ou 2 pour 12 ou davantage des autres, fait qui fut verbalement confirmé par LINDEN-BERG à propos des cultures faites par lui.

J'ai répété plusieurs fois les expé-riences de culture, me servant toujours du milieu d'épreuve de SABOURAUD, préparé selon la technique de cet éminent mycolo-giste, et de maltose de CHANUT; si le milieu de SABOURAUD était fait avec de la glycose, j'obtenais les mêmes résultats qu'avec le milieu maltosé. Il convient pourtant de noter, que la maltose favorise le développement des cultures, les colonies apparaissant plus vite et croissant plus rapidement.

Dans ces expériences répétées le résul-tat fut constamment le même; les cheveux, même deux mois après avoir été coupés,

semeados até dois mezes depois de cortados deram-nos sempre as colonias escuras e glutinozas.

Observámos como uma coincidencia notavel e que talvez explique este fato serem extremamente ricos em cistos os nodulos do nosso segundo cazo e do setimo do Professor GONÇALO MONIZ.

Nos nodulos piedricos dos cazos de RABELLO que deram colonias iguais ás de JUHEL-RENOY o numero dos cistos era sensivelmente inferior aos vistos nos nodulos supra-citados.

Assim, a importancia dessas colonias pigmentadas se nos afigurava grande, tanto mais quanto o pigmento era perfeitamente identico ao do nodule piedrico e a dureza exatamente igual.

Rezolvemos então estudar o desenvolvimento dessas colonias e adoptámos um processo que nos deu o melhor resultado: em logar de fazer gotas pendentes, segundo a tecnica de SABOURAUD, colocavamos os nodulos em balões com o meio de prova deste, e, com a espátula de platina, á proporção que se ia dezenvolvendo a cultura iamos retirando as colonias inteiras e as estudavamos em preparados a fresco, em condições muito superiores ás da gota pendente em que o meio de cultura é muito reduzido e as probabilidades de contaminação por cogumelos estranhos extremamente numerosas. A rezistencia da colonia simplifica ainda mais o processo e com o esmagamento della entre lamina e laminationa, com ou sem potassa, destacava-se todo o agar que ainda pudesse estar aderente e o estudo podia se fazer em otimas condições.

Com esta tecnica acompanhavamos toda a evolução do parazito situado no pêlo e pudemos ver a continuidade do micelio pilar com o micelio que formava a pequena colonia glutinoza.

O micelio destas colonias escuras é perfeitamente igual ao visto, ao redor do pêlo; a côn, a segmentação são as mesmas e ao experimentador mais septico um exame um pouco detido de um nodule piedrico em inicio de crecimiento e o de

nous donnèrent toujours les colonies gluantes et foncées.

J'ai observé comme coincidence digne d'être notée et expliquant peut-être ce fait, que les nodules de mon second cas et ceux du septième du professeur GONÇALO MONIZ étaient extrêmement riches en kystes.

Dans les nodules de *piedra* des cas de RABELLO qui donnèrent des colonies égales à celles de JUHEL-RENOY, le nombre des kystes était assez inférieur à celui, constaté dans les cas que je viens de citer.

Ainsi l'importance de ces colonies pigmentés me paraissait capitale, d'autant plus que le pigment était parfaitement égal à celui des nodules de *piedra* et la dureté exactement la même.

Je résolus alors d'étudier le développement de ces cultures et j'adoptai un procès qui me donna les meilleurs résultats; au lieu de faire des gouttes pendantes, selon la technique de SABOURAUD, je plaçai les nodules dans des ballons contenant son milieu de culture et, à mesure que les cultures se développaient, je retirai avec une spatule de platine les colonies entières et les étudiai en préparation fraîches, dans des conditions beaucoup meilleures que dans les gouttes pendantes, où le milieu est très réduit et les chances de contamination par des champignons étrangers sont extrêmement nombreuses. La résistance des colonies simplifiait encore le procès, parce qu'en l'écrasant entre lame et lamelle, sans ou avec de la solution de potasse, tout l'agar qui par hasard adhérait encore, se détachait et l'étude put ainsi être faite dans les meilleures conditions.

Avec cette technique je suivais toute l'évolution du parasite, situé sur le cheveu, en observant la continuité du mycélium pilaire avec celui de la petite colonie gluante.

Le mycélium de ces petites colonies foncées était parfaitement égal à celui, vu autour du poil; la couleur et la segmentation sont les mêmes et, même pour l'observateur le plus sceptique, un examen un peu plus demeuré d'un nodule de *piedra* au

uma particula retirada de uma colonia adulta demonstram rapidamente que se trata do mesmo parazito.

Nas figuras 23 e 24, estampa 6, deixamos bem clara a absoluta concordancia dos dois micelios. Ambos tem a mesma espessura, ambos apresentam segmentação aproximada igual, havendo zonas do micelio da colonia em que se percebe nitidamente o tão discutido mozaico visto no nodulo piedrico. Existe em ambos o mesmo pigmento amarelo-sujo-esverdeado, e a substancia glutinoza dá á colonia de piedra a mesma rezistencia do nodulo de piedra. Quando a cultura tem mais de um mez de crecimiento é dificil destacar uma pequena porção sendo mais facil para o exame raspar a parte superior com espatula de platina ; quasi sempre quando se quer retirar uma particula a colonia se destaca toda do meio de cultura.

A figura 23, estampa 6 reprezenta o começo de vejetação de um nodulo piedrico cultivado sobre agar maltozado de SABOURAUD ; são perfeitamente viziveis nela duas zonas bem distintas : a primeira, mais escura, é constituida pelo mozaico miceliano superposto a uma pequena zona do cabelo e seus carateristicos são os mesmos que existem em todas as piedras descritas até agora ; a segunda, zona de crecimiento cultural, mostra a continuidade e correspondencia entre a massa criptogamica original e a massa de vejetação subsequente. A perfeita constituição das hifas micelianas é evidente. Em certas zonas ha um tal intrincamento do aparelho vegetativo que se reconstitue, perfeito, o mozaico observado nos cabelos.

Nas ramificações micelianas mais distais são bem destacaveis conidios externos e clomidosporios intercalares. Em todo o micelio se percebe a existencia de membrana, separada por estreita zona clara do plasma interno. Aspetto bem identico é o da figura 24, estampa 6 em que se encontra um pequeno fragmento retirado de colonia adulta, com 1 mez de desenvolvimento, mostrando hifas com a mesma disposição e morfolojia que as da figura 23 ;

commencent de son développement et d'une particule de colonie adulte montre très vite qu'il s'agit du même parasite.

Dans les figures 23 et 24 nous montrons clairement la ressemblance parfaite des deux mycéliums. Tous les deux ont la même grosseur et montrent une segmentation à-peu-près égale et dans le mycélium de la colonie on trouve aussi la mosaïque, si souvent citée, qu'on observe dans le nodule. Tous les deux montrent la même pigmentation jaune verdâtre sale et la matière gluante donne à la colonie la même résistance qu'on observe pour les nodules. Quant la culture est agée de plus d'un mois, il devient difficile, de détacher un petit fragment ; c'est alors plus facile, de gratter la surface de la culture avec une spatule de platine, afin d'obtenir les matériaux nécessaires pour l'examen ; si l'on cherche à enlever une partie presque toujours toute la colonie se détache.

La figure 23 reproduit le commencement de la végétation d'un nodule sur le milieu de SABOURAUD ; on observe parfaitement deux zones bien distinctes : la première, plus foncée, est formée par la mosaïque mycélienne, supposée, à une petite zone du cheveu et ses caractères correspondent parfaitement à ceux de tous les cas de piedra décrits jusqu'aujourd'hui ; l'autre, formée par la zone de croissance culturale, montre la continuité et correspondance entre la masse cryptogamique primitive et la végétation suivante. Leur formation par hyphes mycéliennes est tout à fait évidente. Dans certaines zones il y a un tel enchevêtrement de l'appareil végétatif, qu'il représente parfaitement la mosaïque observée sur les cheveux.

Sur les ramifications mycéliennes périphériques on distingue des conidies externes et des chlamydospores intercalaires. Dans tout le mycelium on reconnaît une membrane séparée par une zone claire étroite du plasme intérieur. Un aspect semblable est celui de la figure 24, où l'on voit un petit fragment, tiré d'une colonie adulte, agée d'un mois ; elle montre des hyphes avec la même forme et

tambem são vistos clamidosporios que se podem superpor aos do micelio piedrico existente nos nodulos, assim como conidios externos, em numero elevado.

O exame da cultura não necessita sempre o emprego da potassa ; é suficiente raspar com espatula de platina a superficie da colonia para se obter um abundante material de estudo, que se apresenta sob a forma de massa pardacento-escura. Colocando-se entre lamina e laminula um pouco desse material se obtém logo aspectos iguais ao da figura 24. Quando se trata pela potassa ou soda um desses fragmentos de colonia e se exerce pequena compressão com uma laminula dá-se a dissociation delle e podem assim ser observados os mesmos corpusculos negros a que nos referimos a propózito do aspetto do parazito no pêlo. Até o presente ainda não observámos nas culturas de nosso cogumelo os cistos que assinalámos nos nodulos piedricos e que supomos serem formas de reprodução de um ascomiceto ; este fato nada tem de anormal, pois são numerosos os exemplos que a micolojia nos oferece de germens patogenicos, cujas formas de reprodução são apenas encontradas nos tecidos animais ou que só se apresentam quando ha sofrimento do parazito, por insuficiencia de nutrição do meio de cultura. O crescimento do parazito se faz de modo apenas vegetativo, sendo ainda assunto da maior controversia no momento atual, os fenomenos de sexualidade que intervêm na formação dos ascos.

E' possivel, que se tenha de procurar um meio de cultura especial para as tricomicozes, exclusivamente epifitas, cuja biologia forçozamente não é a mesma que a das outras tricomicozes. Assunto é este de maior relevancia e que, por enquanto, ainda não abordamos.

Nossas culturas são extremes de qualquer germe de natureza microbiana e assim não podemos ratificar a propoziçao de CHARLES DU BOIX em seu recente estudo de um caso de tricosporia suissa, que atribue a um coco a coloração das colonias do tricosporio e julga necessaria a simbioze

dispositions que celles de la figure 23 ; on voit aussi des chlamydospores qui sont congrues à ceux du mycèle intranodulaire de la *piedra*, ainsi qu'un grand nombre de conidies externes.

L'examen de la culture ne nécessite pas toujours l'emploi de la potasse ; il suffit de gratter la surface de la colonie avec une spatule de platine, pour obtenir des matériaux abondants d'étude sous forme d'une masse brun foncé, qui, examinée en préparation microscopique, donne une image pareille à celle de la figure 24. Si l'on traite un de ces fragments de culture avec de la potasse ou de la soude, en exerçant un peu de pression avec une lamelle, on obtient la dissociation et on observe alors les mêmes corpuscules noirs, cités dans la description du parasite dans le cheveu. Je n'ai pas encore observé, dans les cultures de notre champignon, les kystes, signalés dans les nodules de *piedra* et supposés formes de reproduction d'un ascomycète ; ceci n'a rien d'extraordinaire, puisque la mycologie offre de nombreux exemples de germes pathogènes, où les formes de reproduction sont seulement rencontrées dans les tissus animaux ou qui montrent dans les cultures seulement des formes de souffrance, dues à l'insuffisance de la nutrition. La croissance du parasite est purement végétative et les phénomènes sexuels, qui précèdent la formation des asques, sont encore l'object de discussion et de doute.

C'est possible qu'il faudra chercher un milieu de culture spécial pour les trichomycoses de nature purement épiphytique et dont la biologie naturellement est différente de celle des autres trichomycoses. Je ne veux pas aborder maintenant ce sujet qui est de la plus haute importance.

Nos cultures sont livres de tout germe de nature bactérienne et ainsi je n'ai pu confirmer l'idée de CHARLES DU BOIX, exposée dans une étude récente sur un cas de trichosporie suisse, qui attribue à un coccus la coloration des colonies de trichosporon et considère nécessaire la symbiose

do coco e do tricosporio para a produção da ganga resistente constituída pela substancia amorfa que empresta a dureza ao nodule piedrico e ás culturas do mesmo.

A coloração das nossas culturas sofre a influencia da idade do seu dezenvolvimento e a luz do ambiente. Conservado no escuro ou exposto á luz, o pigmento não apresenta o mesmo matiz. Esses diversos matizes são muito bem apreciaveis nas quatro colonias reproduzidas nas figuras 2, 3, 4 e 5, estampa 5. O dezenvolvimento da cultura é extraordinariamente lento e a menor colonia que aí apresentamos tinha 8 dias de dezenvolvimento, na temperatura do ambiente; ao redor della vê-se a côr escura do meio maltozado de SABOURAUD e a colonia possue uma côr esverdeada perfeitamente apreciavel, de envolta com lijeiros tons amarelados. Circular, tem os bordos, apezar de regulares, formados por delgada franja constituída pela zona de crecimiento miceliano. E' um pouco acuminada, não a modo do *trichophyton acuminatum*, mas com pequenas elevações juxtapostas de côr amarellada; já existe aí um lijeiro inicio dos sulcos que se verão profundos e nitidos nas fases seguintes. Com 15 dias de dezenvolvimento a colonia triplica de volume e sua forma já se estabelece de modo carateristico; a sua proeminencia sobre o meio de cultura já é notavel e do centro partem depressões que se terminam na periferia. Estas depressões têm côr mais escura que o resto da colonia, que apresenta uma borda periférica com o mesmo colorido com um tom mais claro; dos bordos, bem regulares, se vêm partir pequeninos filamentos, constituindo finissima e curta franja. Na colonia são perceptiveis zonas consecutivas de varias tonalidades, sendo a côr geral aproximada do amarelo verdoengo; no centro são vistos os mesmos pequenos cumulos de côr amarelada mais clara, já mencionados nas fases anteriores.

Daí em diante a colonia tende a tomar côr mais escura, principalmente se fôr conservada em ambiente menos iluminado, como acontece com a colonia 3, de 17 dias

du coccus et du trichosporon pour la production de la gangue résistante, formée par la substance amorphe à laquelle le nodule de piedra et ses cultures doivent leur consistance dure.

Dans nos cultures la couleur dépend de l'âge et de la lumière. Elle n'a pas la même nuance quand on conserve la culture dans l'obscurité et quand on l'expose à la lumière. On peut parfaitement apprécier les différentes nuances dans les quatre colonies, reproduites dans les figures 2—5. Le développement des cultures est extrêmement lent et la moindre des colonies représentées avait 8 jours de développement à la température ordinaire; autour d'elle on voit la couleur foncée du milieu maltosé de SABOURAUD et la colonie est d'une couleur verdâtre bien appréciable, entourée de légères nuances jaunâtres. Elle est parfaitement ronde, à bords réguliers, entourés par une bordure délicate, due à la zone d'expansion du mycèle. Elle est un peu acuminée, pas à la manière du *trichophyton acuminatum*, mais dû à de petites élévations juxtaposées, de couleur jaune; on note déjà un léger commencement des sillons qui deviendront nets et profonds dans les phases suivantes. Avec 15 jours de développement la colonie augmente trois fois en volume et sa forme s'établit déjà d'une manière caractéristique; son élévation sur le milieu de culture s'impose déjà et de son centre partent des dépressions qui atteignent la périphérie. Ces dépressions sont de contour plus foncé que le reste de la colonie, qui montre le bord périphérique de la même couleur, avec une nuance plus claire; de ses bords très réguliers on voit partir de petits filaments, formant une bordure courte et très délicate. Sur la colonie on perçoit des zones consécutives de nuances variées, se rapprochant généralement du jaune verdâtre; au centre on voit ces élévations jaunâtres, déjà mentionnées pour les phases antérieures.

À partir de ce moment la colonie montre une tendance à prendre une teinte plus foncée, principalement, si elle est conservée dans un ambiant peu éclairé, comme

de desenvolvimento, em que predomina o matiz castanho-escuro.

A figura 5 reprezenta uma colonia com 4 mezes de desenvolvimento e as variadas zonas de coloração são aí bem acentuadas; é curioso notar a aproximação que existe entre a tonalidade geral desta colonia e a dos nodulos piedricos reprezentadas em nossa figura n. 1, estampa 5. Devemos notar que nos nodulos piedricos essas diversidades de tons que vimos assinalando nas colonias tambem existem, havendo-as mais claras e mais escuras.

Com o crecimiento da colonia escura a dureza vai se tornando cada vez maior e só pela raspagem da superficie externa della se pode bem estudar a sua constituição ou pela dissociação com a potassa de qualquer fragmento que, com dificuldade, se consiga retirar da periferia. Para este ultimo fim é necessário cortar a colonia com finas espatulas de platina, sendo este o processo de que nos servimos quando retirámos partes de colonias para incluzões e estudo em cortes.

Nas culturas mais velhas encontrámos algumas hifas recurvadas com pequenas ramificações paralelas, situadas no lado convexo e que podem ser comparadas aos organs pectinicos descriptos em alguns parazitos de tinhas; reprezentamos um desses aspectos, sem comtudo afirmar definitivamente que se trate de forma de reprodução do parazito (Est. 6. Fig. 26)

Com o metodo que adotámos para o estudo do crecimiento dos nodulos piedricos conseguimos surpreender a vejetação dos elementos fuziformes, vendo-se de suas extremidades a saída de um micelio septado e que tem o aspetto do micelio do parazito, notando-se apenas sua menor espessura. Esperamos conseguir obter cortes dos nodulos piedricos em inicio de vejetação para melhor acompanharmos o crecimiento desses interessantes corpos fuziformes. Não se pode negar a semelhança que existe entre o crecimiento desses elementos e o dos fuzos pluriseptados, especialmente dos microsporios; de fato, estes, quando cultivados em gotas pendentes, apresentam

cela se voit dans la colonie 3, âgée de 17 jours, où la nuance prédominante est brun foncé.

La figure 5 représente une colonie, âgée de 4 mois, avec des zones de coloration différente bien accentuées; c'est intéressant de remarquer la ressemblance qu'il y a entre le ton général de cette colonie et celui des nodules de *piedra*, représentés dans la figure 1. Il faut remarquer que ses différences de ton que nous avons signalées pour les colonies, existent aussi dans les nodules de *piedra*, où il y en a de plus clairs et de plus foncés.

Pendant la croissance de la colonie sa dureté devient toujours plus grande et ce n'est qu'en grattant sa surface externe, qu'on peut étudier sa formation ou alors en dissociant dans de la potasse quelque fragment qu'on a détaché avec difficulté de sa périphérie. Dans le dernier cas il faut entamer la colonie avec des spatules de platine fines, procès que nous suivons aussi pour enlever des fragments de la colonie pour l'inclusion et l'étude en coupes.

Dans les cultures plus anciennes on trouve quelques hyphes recourbées, à petites ramifications parallèles, situées du côté convexe et que l'on peut comparer aux organes pectinés, décrits chez quelques champignons de teignes; je reproduis une de ces formes, sans toutefois affirmer qu'il se traite d'une forme de reproduction du parasite.

Avec la méthode que j'employais pour l'étude de la croissance des nodules de *piedra*, j'ai réussi à surprendre la germination des corps fusiformes, en voyant partir des extrémités un mycèle septé, pareil à celui du parasite et se distinguant seulement par sa grossesse moindre. J'espère obtenir des coupes de nodules de *piedra* au commencement de leur végétation, pour accompagner mieux la croissance de ces corps fusiformes. On ne peut nier la ressemblance de la germination de ces éléments et de celle des fuseaux à cloisons, surtout observés chez les microscoporons; en effet ceux-ci, à la culture en goutte pen-

rapidamente vejetação miceliana em suas extremidades.

Vem aqui a pelo mencionar uma pequena nota comparativa entre a colonia, ora descrita e as que tem o aspetto vermiciforme, encontradas por JUHEL-RENOY. Nas culturas do nosso primeiro cazo obtivemos algumas dessas colonias e tambem RABELLO as obteve em seus dois cazos, sempre muito raras em relação ás colonias escuras. Tivemos uma otima cultura para comparação com as nossas, trazida pelo Dr. FIGUEIREDO VASCONCELLOS, da micoteca de SABOURAUD. Não ha diferença sensivel entre as culturas vermiciformes brasileiras e a cultura da coleção SABOURAUD, que tem o rotulo de « Piedra Nantes ». Não existe o menor ponto de identidade entre a coloração, rezistencia e aspetto dessa colonia com a nossa cultura ; a côr se aproxima um pouco da côr das culturas de *Achorion Schoenleini* e o aspetto vermiciforme é quazi identico ao da cultura de hifo-blastomicose de LUTZ. Na periferia ha uma zona esbranquiçada, que, ás vezes, se estende até o centro da cultura ; esta é mole e facilmente destacavel com um fio de platina. Microscopicamente vê-se o micelio, pouco largo, septado e que se fragmenta em pequenos articulos com 2 ou 3 septos. Entre o micelio, esparsos irregularmente, ás vezes em grandes massas, outras vezes em pequeno numero, os esporios grandes e arredondados são sempre vistos.

As hifas micelianas revestidas por uma membrana fina e o plasma sem coloração especial, tornam a cultura comparavel a grande numero de cogumelos banais, facilmente cultivaveis entre os existentes no ar do ambiente. Não existindo a substancia amorfa e glutinoza intercalar ao micelio continuo e sem clamidosporios é claro que a isso se deve a pouca rezistencia da cultura.

Não é possivel estabelecer o menor confronto entre o cogumelo existente nos pelos piedricos e o cultivado nas culturas vermiciformes iguais ás de JUHEL-RENOY.

dante, montrent rapidement une végétation mycélienne à ses deux extrémités.

Il convient de faire ici une comparaison rapide entre les colonies que nous venons de décrire, et les autres, rencontrées par JUHEL-RENOY, à aspect vermiciforme. Dans les cultures de mon premier cas j'ai obtenu quelques-unes de ces colonies et RABELLO aussi les obtint en deux de ces cas, mais elles étaient toujours rares en relation aux colonies foncées. J'ai une excellente culture pour comparer avec les miennes, qui a été rapportée par le Dr. FIGUEIREDO VASCONCELLOS de la *mycotica* de SABOURAUD. Il n'y a pas de différence appréciable entre les cultures vermiciformes brésiliennes et la culture de la collection SABOURAUD, étiquettée « *Piedra nantes* ». Ces colonies n'ont pas la moindre ressemblance dans l'aspect, la couleur et la résistance avec nos cultures décrites ; leur nuance se rapproche un peu de celle du *Achorion Schoenleini* et leur aspect est très semblable à celui des cultures de l'*hypho-blastomycose* de LUTZ. À la périphérie, il y a une zone blanchâtre qui s'étend quelquefois jusqu'au centre de la culture ; celle-ci est molle et se détache facilement avec un fil de platine. Au microscope on voit le mycèle septé assez fin, se fragmentant en petits articles à 2 ou 3 cloisons. On voit toujours des spores grandes et arrondies, irrégulièrement distribuées entre le mycèle, parfois en petit nombre et parfois en grandes masses.

Les hyphes mycéliennes, revêtues d'une membrane fine et à plasma incolore, permettent de comparer cette culture avec un grand nombre de champignons banals et facilement cultivables qui se trouvent dans l'air ambiant. Le manque de substance amorphe et gluante entre le mycèle, ainsi que des chlamydospores, explique le défaut de résistance des cultures.

*Citologia do cogumelo da piedra:*

Pelo exame a fresco do parazito nos cabelos não pudemos tirar a menor ilação acerca de sua contextura intima ; os nodulos piedricos incluidos em parafina mostraram-se muito friaveis e os nodulos, dissociados pela potassa e córados, apoz lavagem pela agua não nos deram preparações dignas de menção.

Recorremos então, para estudo da fina estrutura do parazito, á inclusão em parafina e córtes da cultura. Para esse fim retiravamos a cultura do meio de SABOURAUD e a fixavamos na solução de sublimado-alcool de SCHAUDINN, seguindo depois a tecnica aconselhada por GIEMSA. Os córtes foram gentilmente feitas pelo Dr. GASPAR VIANNA, a quem agradecemos essa fineza, e córados pela solução de GIEMSA.

Os resultados obtidos foram bastante satisfatórios e nos parece que o metodo de GIEMSA com fixação no sublimado-alcool é um bom meio de estudar a cytologia dos cogumelos.

Como simples menção, não podemos deixar de dizer que no estudo dos lêvedos a fixação a fresco pelo sublimado-alcool e consecutiva coloração pela solução de GIEMSA dá magnificas preparações permitindo encontrar aspectos citologicos tão belos, como não vimos ainda com qualquer outro processo. Neste caso, é preciso, sómente, retirar o sublimado ou pela lavagem um pouco demorada em agua corrente ou pelo emprego do alcool iodado. Assim, no estudo dos lêvedos, pode-se ter um bom preparado em 2 horas.

Alguns dos aspectos obtidos nos córtes das culturas são reproduzidos nas figs. 27 a 34 da Estampa 6.

A estrutura do micelio cultural fica perfeitamente esclarecida ; mas não nos sentimos com autoridade suficiente para afirmar definitivamente qual será a interpretação correta dos aspectos citologicos encontrados ; devemos, contudo, como subsidio para os mais competentes, explicar a maneira porque seria possível estabelecer

*Cytologie du champignon de la piedra.*

L'examen à frais du parasite dans les cheveux ne nous permit pas de tirer la moindre conclusion sur sa structure intime ; les nodules inclus dans la paraffine sont très friables et, dissociés dans la potasse et colorés après lavage à l'eau, ils ne donnèrent que des préparations peu satisfaisantes.

Je me servis alors de cultures, coupées après inclusion dans la paraffine. Pour cela je retirai les cultures du milieu de SABOURAUD et je les fixai dans la solution de sublimé et alcool selon SCHAUDINN, en suivant après la technique de GIEMSA. Les coupes furent faites par le Dr. GASPAR VIANNA, à qui je suis très obligé pour ce service.

Les résultats obtenus par la coloration selon GIEMSA, sont assez satisfaisants et la méthode décrite me paraît très applicable à l'étude cytologique des champignons.

(Je ne puis ici m'empêcher de signaler rapidement le fait que, dans l'étude des levures, la fixation à frais au sublimé-alcool, suivie de coloration par la méthode de GIEMSA, donne des préparations excellentes qui permettent de trouver des images cytologiques tellement belles, comme je ne les ai pas encore vues avec d'autres procès. Dans ce cas il faut seulement se débarrasser du sublimé, soit par le lavage soigneux à l'eau, soit par l'usage de l'alcool iodé. On peut obtenir ainsi en deux heures une bonne préparation pour l'étude des levures).

Quelques-unes des images, obtenues par les coupes des cultures, sont reproduites dans la planche 6, fig. 27 à 34.

La structure du mycèle devient parfaitement claire, mais je ne me sens pas suffisamment autorisé, pour me prononcer définitivement sur l'explication correcte des images cytologiques ; il me faut pourtant, comme contribution pour des juges plus compétents, exposer la manière, par laquelle on pourrait établir une suite logique pour ces figures si intéressantes.

uma seriação lójica nessas figuras interessantíssimas.

A existencia de uma membrana fica perfeitamente evidente, assim como se observam facilmente que os septos do cogumelo são muito aproximados e parecem ser da mesma natureza que a membrana peripherica. Entre esta e o protoplasma celular existe uma zona clara, que se não córa, contrastando assim com o protoplasma homojeneo córada em violeta palida. No interior do protoplasma encontrámos, quasi sempre colocada lateralmente, uma massa espherica intensamente córada em vermelho, circundada por orla incolor; essa massa vermelha tem todas as apariencias de um tipico nucleo com cariozoma e zona de suco nuclear.

Aspetos, como o ora descripto, são vistos principalmente nas zonas, em que o crecimiento do cogumelo não é activo, porque, naquellas em que elle está em franca vejetação parece existir um intenso processo de divizão nuclear. Nestas zonas a segmentação das hifas é maior e, no interior do protoplasma dos pequenos articulos micelianos vimos varios corpusculos cromaticos, que, encarados como nucleos, devriam ser interpretados como em processo ativo de divizão.

Ha aspetos que convidam á admitir duas modalidades de divizão: uma homopolar e a outra heteropolar.

Como figuras demonstrativas do primeiro processo de mitose temos na parte inferior da figura 28 estampa 6 um nucleo em que se vêm dois pequenos granulos cromaticos nas extremidades de um fino filamento da mesma natureza. notando-se no centro uma grande massa cromatica formando uma nitida placa equatorial; na figura 29 já estão as duas metades do cariozoma dispostas nas extremidades de um pequeno filamento axial, em faze, portanto, muito adiantada de divizão. Pela divizão homopolar seria muito facil explicar a presença de muitos nucleos no mesmo segmento miceliano, admitindo-se uma serie de divizões consecutivas; a disposição dos nucleos autorizaria esta interpretação, sendo dificil

L'existence d'une membrane est parfaitement claire, comme on observe facilement, que les cloisons de ce champignon sont très rapprochés et paraissent être de la même nature que la membrane périphérique. Entre celle-ci et le protoplasme cellulaire il y a une zone claire qui ne se colore pas, contrastant ainsi avec le protoplasme homogène coloré en violet pâle. À l'intérieur de ce protoplasme et, presque toujours, d'un côté, on trouve une masse sphérique de couleur rouge intense, entourée d'une zone incolore; cette masse rouge a tout-à-fait l'apparence d'un noyan typique à caryosome et zone de suc nucléaire.

Les aspects que nous venons de décrire, se trouvent principalement dans les zones, où la croissance du champignon n'est pas active, parce que là, où il est en pleine végétation, il paraît y avoir un procès intense de division nucléaire. Dans ces zones la segmentation des hyphes est plus accusée et à l'intérieur du protoplasme des petits segments mycéliens j'ai observé plusieurs granulations chromatiques que l'on peut considérer comme des noyaux cellulaires, alors en procès actif de division.

Il y a des images qui engagent à admettre deux formes de division, dont une homopolaire et l'autre heteropolaire.

Comme illustration de la première forme de mitose nous avons, dans la figure 28 en bas, un noyau dans lequel on voit deux petites granulations chromatiques, aux deux bouts d'un filament de la même nature, tandis qu'au centre il y a une grande masse chromatique, formant une plaque équatoriale nette; dans la figure 29 on trouve les deux moitiés du caryozome, déjà disposées aux deux extrémités d'un petit filament axial, par conséquence en état très avancé de division. La présence de noyaux nombreux dans le même segment mycélien s'expliquerait facilement par la division homopolaire, en admettant une série de divisions consécutives et la disposition des noyaux autorise cette interpré-

compreender de outro modo o paralelismo dos nucleos, como se observa, por exemplo, na figura 30, estampa 6.

O outro processo de divisão, o heteropolar, caracterizaria os aspectos que se observam frequentemente nos preparados córados pelo GIEMSA, como na figura 31, em que se vê um delgado filamento emergindo do cariozoma e tendo na extremidade uma massa cromática bem acentuada. Este aspecto é bastante comum, como o de 2 e 3 massas cromáticas de volume desigual, unidas por um pequeno filamento.

Conforme deixámos escrito anteriormente, não estamos absolutamente convencidos da exatidão dessas explicações sobre o processo de divisão nuclear neste cogumelo; o assunto, pela sua importância, merece maior atenção, principalmente no momento que atravessa a micologia, numa fase brilhante de investigações sobre a estrutura dos nucleos dos bolores.

### CONCLUZÕES

Do estudo feito e acima exposto julgamos poder tirar as seguintes conclusões:

1. Existe no Brasil uma forma de Piedra, isto é, uma afecção nodular dos cabelos, produzida por um cogumelo.
2. Os nodulos, escuros e aderentes ao cabelo, são formados por um cogumelo constituído por hifas septadas e que se dicotomizam; no interior do micelio existem em grande numero corpusculos, de forma variadas, como cistos em diversas fases de evolução e elementos fuziformes ciliados, corpusculos que não existem nas outras formas de Piedra, já conhecidas.
3. A cultura deste cogumelo, em meio de SABOURAUD, produziu colonias escuras e rezistentes, providas de um pigmento identico ao observado no nódulo piedrico e com a mesma substancia glutinosa, que produz a rezistencia delle.
4. O aspecto do micelio do cogumelo por nós cultivado é o mesmo que o do micelio existente no nódulo piedrico.

tation, parce qu'il serait difficile d'expliquer autrement le parallélisme des noyaux, observé par exemple dans la figure 30.

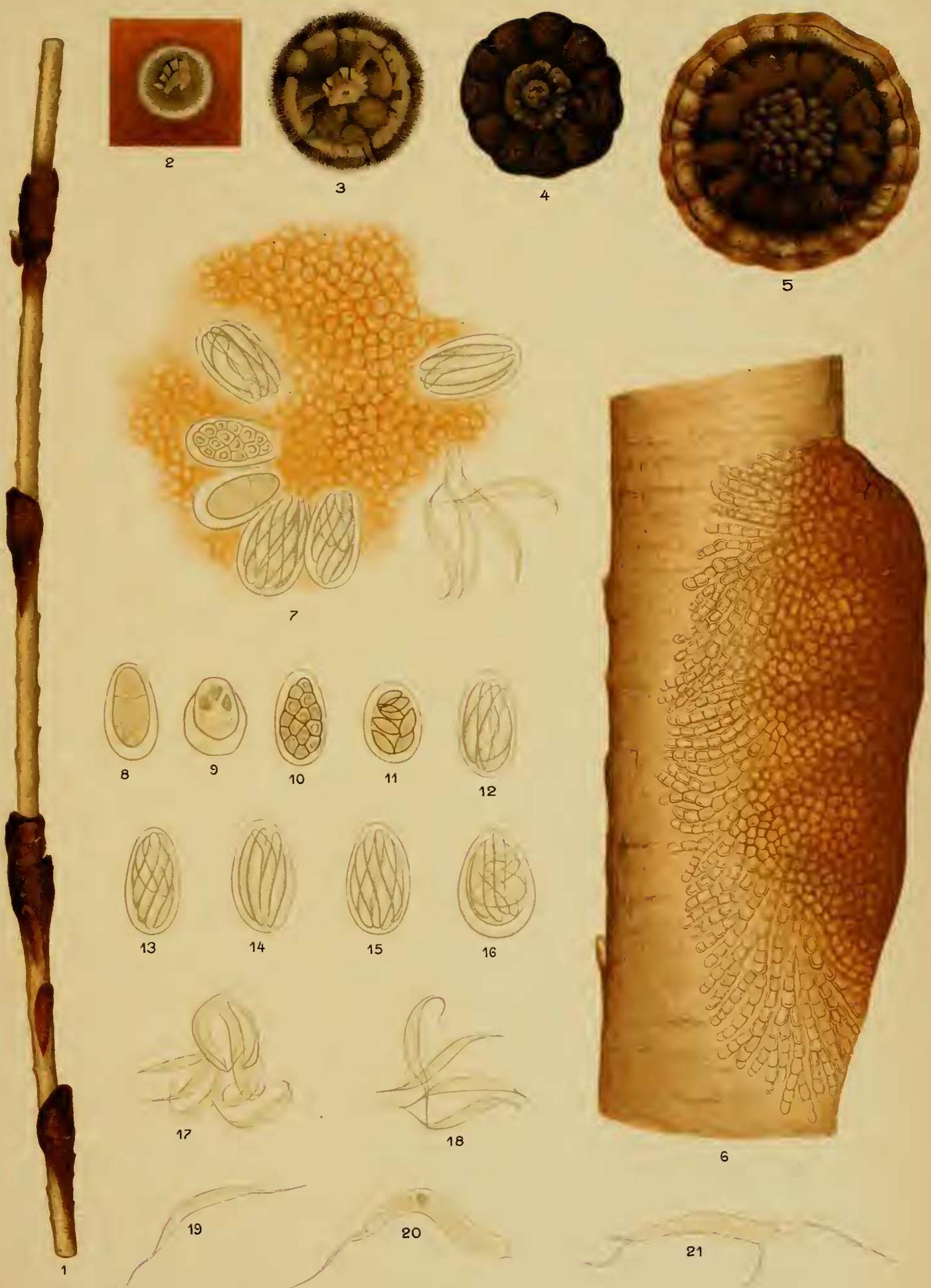
Le second mode de division, par procès hétéropolaire, se caractérise par les images, observés fréquemment dans les préparations colorées selon GIEMSA, par exemple dans la figure 31, où l'on voit un filament fin, partant du caryosome et portant à son extrémité une masse chromatique bien accentuée. Cet aspect est assez commun, comme aussi celui de 2 ou 3 masses chromatiques de volume inégal, réunies par un petit filament.

Comme j'ai déjà déclaré, je ne suis pas absolument convaincu de l'exactitude de ces explications du procès de division du champignon; la question est importante et mérite d'autant plus d'attention que la mycologie passe en ce moment par une phase brillante de recherches sur la structure nucléaire des moisissures.

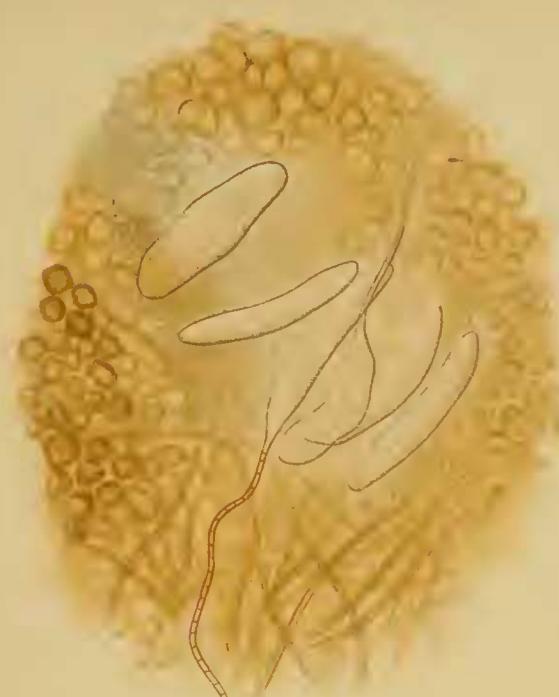
### CONCLUSIONS.

Des études que je viens d'exposer, je crois pouvoir tirer les conclusions suivantes :

1. Au Brésil existe une forme de *piedra*, c'est-à-dire une affection nodulaire des cheveux, produite par un champignon.
2. Ces nódulos, foncés et adhérents aux cheveux, sont formés par un champignon à hyphes cloisonnées et dichotomes; à l'intérieur du mycèle, il y a un grand nombre de corpuscules kystiques de forme variée et en diverses périodes de développement, contenant des éléments fusiformes ciliés qui n'existent pas dans les autres formes décrites de *piedra*.
3. La culture de ce champignon en milieu de SABOURAUD produit des colonies foncées et résistantes, à pigment égal à celui que l'on observe dans les nódulos de la *piedra*.
4. L'aspect du mycèle du champignon que j'ai cultivé, est le même que celui du mycèle formant le nódulo de *piedra*.







25



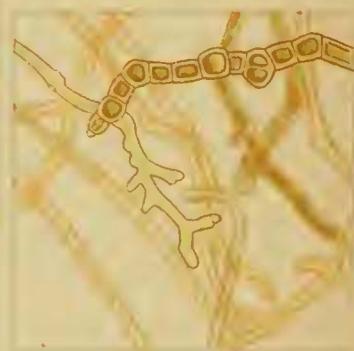
23



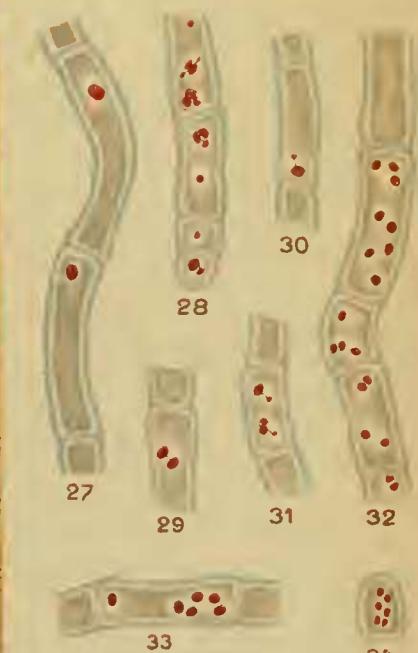
24



22



26



30

28

27

29

31

32

33

34